بررسی اثر اسانس رزماری بر روی روند رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در سوپ آماده تجارتی

کامران جعفرزاده خالدی[۱]، مهزاد آقازاده مشگی[۲*]، انوشه شریفان[۳]، کامبیز لاریجانی[٤]

چکیده

توجه و علاقه فزاینده مبنی بر استفاده کمتر از نگهدارنده‌های سنتتیک منجر به انجام تحقیقات در زمینه یافتن و استفاده از مشتقات طبیعی دارای خاصیت ضد میکروبی شده است. اسانس رزماری به علت دارا بودن خاصیت ضدمیکروبی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی وسیع، به عنوان یک گیاه دارویی شناخته شده است. هدف از این تحقیق، بررسی اثر اسانس گیاه رزماری بر روی رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در سوپ آماده تجارتی در حضور غلظت‌های مختلف اسانس (ppm ۱۰۰ و ۵۰ ، ۰) در درجه حرارت‌های ۸ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱٤ روز بود.

شمارش تعداد کل باکتری به روش کشت سطحی پس از تهیه رقت‌های متوالی و کشت در محیط نوترینت آگار، پس از ۲٤ ساعت گرمخانه گذاری انجام پذیرفت.

نتایج حاصل از بررسی نشان می‌دهد تأثیر مقادیر مختلف اسانس بر میزان رشد باکتری از نظر آماری معنی‌دار ($p<0/05$) بوده و با افزایش غلظت اسانس، میزان رشد باکتری کاهش می‌یابد.

واژگان کلیدی: *اسانس رزماری، استافیلوکوکوس اورئوس، نگهدارنده طبیعی*

تاریخ دریافت: ۸۸/۹/۱۳ تاریخ پذیرش: ۸۸/۱۲/۱٤

مقدمه

اسانس‌های گیاهی مدت زمان طولانی است که جهت درمان بیماری‌ها استفاده می‌شوند و در بسیاری از کشورهای پیشرفته، مواد با منشاء گیاهی نقش مهمی را در حفظ سلامت جامعه بازی می‌کنند. بعلاوه شناسایی این ترکیبات با فعالیت ضدمیکروبی همیشه برای دانشمندانی که به جست و جوی منابع جدید دارویی برای درمان بیماری‌های مختلف هستند، جذاب بوده است.

اسانس‌های گیاهی که به عنوان ترکیبات GRAS (Generally Recognized as Safe) شناخته می‌شوند، بطور گسترده‌ای در صنایع غذایی استفاده شده و به عنوان ترکیبات طعم دهنده در انواع غذاها، نوشابه‌ها و محصولات قنادی استفاده می‌شوند. آنها همچنین دارای خاصیت ضدمیکروبی بر ضد طیف وسیعی از ریزنده‌ها (Microorganisms) می‌باشند(۱۲).

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲*- گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران (mahzad.aghazadeh@gmail.com)

۳- گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

٤- گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

Investigation of effect of the Rosemary essential oil on growth of Staphylococcus aureus in commercial instant soup

Jafarzadeh Khaledi, K.[1], Aghazadeh Meshgi, M.[2*], Sharifan, A.[3] and Larijani, K.[4]

1- Graduated of Master of Science, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture and Natural Resources, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2- Department of Food Hygiene, Faculty of Specialized Veterinary Sciences, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran (mahzad.aghazadeh@gmail.com)*

3- Department of Food Science and Technology, College of Agriculture and Natural Resources, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

4- Department of Chemistry, Faculty of Basic Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Increasing tendency to reduce the use of synthetic preservatives has led to research and use of naturally derived antimicrobials. The essential oil of rosemary is used as flavoring agent in food and because of great antimicrobial and antioxidative characteristics, it is known as a pharmaceutical plant.

The aim of this survey was to investigate the effect of different concentrations of rosemary essential oil (0, 50 and 100 ppm) at two temperatures (8 and 25 ºC) during fourteen days storage on growth of *Staphylococcus aureus* in a commercial soup. Surface plate count was used after serial dilution preparation of samples for determination the number of bacteria after 24 hours.

Results were statistically significant ($p<0.05$) and indicated that increasing the concentration of the essential oil caused a decrease in bacterial population.

Keywords: *Rosemary essential oil, Staphylococcus aureus, Natural preservative*

Archive of SID

www.SID.ir

استعمال ترکیبات نگهدارنده سنتتیک منجربه بروز مشکلات زیستی، ناشی از باقی ماندن مواد سمی، ترکیبات سرطان‌زا و ترکیبات بر هم زننده تعادل هرمونی خواهد شد. همچنین با توجه به اینکه استفاده مداوم از ترکیبات سنتتیک موجب مقاومت برخی از ریززنده‌ها به این ترکیبات می‌شود، ضرورت توسعه نگهدارنده‌های جدید طبیعی با کارایی بیشتر و همچنین سازگار با محیط زیست وجود دارد(۱۳).

نکته حائز اهمیت این است که نوع و میزان ترکیبات و به تبع آن میزان فعالیت ضدمیکروبی اسانس به محل کاشت گیاه وابسته است(۸، ۹ و ۲۰). از طرفی اگر از اسانس‌های گیاهی به عنوان ماده ضد میکروبی در ماده غذایی استفاده شود، باید به تأثیرات خصوصیات حسی (Organoleptic) نیز توجه شود، زیرا که این نگهدارنده‌های طبیعی می‌توانند طعم و مزه ماده غذایی را تغییر دهند(۱۱).

رزماری گیاهی است از خانوادهٔ نعناعیان (Lamiaceae or Labiatae)، چند ساله و به فرم بوته‌ای که در تمامی فصل‌های سال سرسبز می‌باشد. از خصوصیات این گیاه بوی فراوان برگ‌ها می‌باشد که آن را به عنوان یک گیاه معطر مشهور نموده است. این گیاه از گیاهان بومی مدیترانه بوده و در ایران نیز کشت می‌شود. اسانس رزماری با کاربرد طعم‌دهندگی در مواد غذایی استفاده می‌شود و همچنین به علت دارا بودن خاصیت ضدمیکروبی و خاصیت آنتی اکسیدانی وسیع به عنوان یک گیاه دارویی شناخته شده است(۳ و ۱۹). اسانس رزماری همچنین دارای خواص آنتی‌موتاژنیک (Antimutagenic) (۱۵) بوده و عدم سمیت آن در مدل‌های حیوانات آزمایشگاهی به اثبات رسیده است(۱٤).

جنس استافیلوکوکوس متعلق به خانواده میکروکوکاسه (Micrococcaceae) می‌باشد که مهمترین گونه این جنس استافیلوکوکوس اورئوس است. استافیلوکوکوس اورئوس عامل اصلی مسمومیت غذایی استافیلوکوکی و عفونت‌های خارج روده‌ای مانند زخم، دمل، ذات‌الریه، منتژیت، باکترامی، سندرم شوک توکسیک و... می‌باشد. انتروتوکسین تولید شده توسط این باکتری به حرارت مقاوم می‌باشد به طوریکه پخت معمولی، پاستوریزاسیون و خشک کردن آن را از بین نمی‌برند. رشد استافیلوکوک به تعداد بیش از یک میلیون در گرم لازم است تا توکسین کافی جهت بروز مسمومیت تولید شود. مسمومیت حاصل از استافیلوکوکوس اورئوس یکی از شایع‌ترین مسمومیت‌های غذایی بوده و در اغلب کشورها از نظر وقوع در لیست سه مسمومیت درجه اول قرار دارد(۲).

در این پژوهش اثرات اسانس رزماری، درجه حرارت و مدت زمان نگهداری بر روی رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در سوپ جو تجارتی در حضور غلظت‌های ppm ۱۰۰ و ۵۰ ، ۰ اسانس رزماری طی ١٤ روز نگهداری در درجه حرارت‌های ۸ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد بررسی گردید.

لازم به ذکر است که غلظت‌های اسانس مورد استفاده در آزمایش‌های میکروبی، پس از انجام آزمون‌های حسی بر روی نمونه‌های سوپ جو تجارتی حاوی مقادیر مختلف اسانس به دست آمدند.

مواد و روش کار

تهیه گیاه

گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) در مرداد ماه از منطقه شمال غرب تهران جمع‌آوری گردید و در دانشکده کشاورزی دانشگاه علوم و تحقیقات تهـران تأیید نام علمـی گردید. اندام هوایی گیاه برای مدت کوتاهی جهت از بین بردن گرد و خاک چسبیده، در جریان آب شست و شو گردید و سپس به مدت دو روز در دمای اتاق خشک گردیدند(۱).

استخراج اسانس

در این تحقیق به منظور استخراج اسانس گیاه مورد نظر از روش تقطیر با آب و دستگاه کلونجر استفاده گردید. بدین

www.SID.ir

منظور ۱۰۰ گرم گیاه خشک شده به بالن تقطیر منتقل و به مدت ۳ ساعت عمل استخراج و اسانس‌گیری انجام شد. لازم به ذکر است که برای افزایش راندمان استخراج، گیاه خشک شده قبل از استخراج اسانس خرد گردید. در نهایت اسانس به دست آمده در شیشه تیره رنگ سترون شده در یخچال نگهداری شد(۱).

شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس

به منظور تجزیه کیفی و کمی اسانس رزماری، نمونه آماده شده به دستگاه کروماتوگرافی گازی توأم با طیف سنج جرمی (GC-MS) موجود در آزمایشگاه تخصصی مجتمع آزمایشگاهی واحد علوم و تحقیقات تزریق گردید. مشخصات و شرایط دستگاه GC-MS به شرح ذیل می‌باشد:

دستگاه GC: مدل HP-6890 شرکت HEWLETT PACKARD امریکا، نوع ستون HP-5MS، ابعاد ستون شامل طول ۳۰ متر، قطر ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت فیلم ۰/۳۲ میکرون، برنامه‌ریزی دمایی ستون ۶۰-۲۲۰°C، دمای محل تزریق ۲۵۰°C، گاز حامل هلیوم با شدت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه.

دستگاه MS: مدل HP-5973 شرکت HEWLETT PACKARD امریکا، انرژی یونش(EI) ۷۰ الکترون ولت، دمای محفظه یونش ۲۳۰ درجه سانتی‌گراد، تجزیه‌گر جرمی کوادروپل، دمای تجزیه‌گر جرمی ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد.

در نهایت با توجه به الگوی خروج آلکان‌های نرمال، شاخص بازداری، اندیس کوآتس و تطبیق آنها با الگوهای کتابخانه‌ای، طیف‌های مربوط به هر جسم تفسیر و ترکیبات تشکیل دهنده اسانس شناسایی شدند.

ارزیابی حسی

جهت ارزیابی تأثیر اسانس بر روی خصوصیات حسی شامل عطر، طعم و پذیرش کلی، سوپ‌های حاوی غلظت‌های مختلف اسانس همراه با یک نمونه شاهد بعد از آماده نمودن سوپ در شرایط یکسان توسط هفت پانل تست تعلیم دیده آزمون گردیدند.

در تعیین خصوصیات عطر و طعم نمونه‌ها از آزمون لذت بخشی (Hedonic test) ۷ طبقه‌ای شامل طبقات ۱- غیر قابل تحمل، ۲- بد، ۳- جالب نیست، ٤- متوسط، ۵- خوب، ٦- خیلی خوب و ۷- فوق العاده، استفاده گردید. بدین منظور سوپ حاوی سه غلظت اسانس (ppm ۲۰۰ و ۱۰۰ و ۵۰) و یک نمونه شاهد و فاقد اسانس مورد آزمون قرار گرفت(٤ و ۱۷). همچنین در مورد سؤال پذیرش کلی، عدد ۱ به معنای پذیرش نمونه و عدد ۰ به معنای عدم پذیرش نمونه در نظر گرفته شد.

آماده‌سازی سوبسترا

ابتدا سوپ جو تجارتی طبق دستور العمل کارخانه تولید کننده در شرایط آزمایشگاهی آماده‌سازی گردید و اجازه داده شد به مدت بیست دقیقه در حرارت لازم بجوشد. پس از این مرحله سوپ به دست آمده در فانل‌های شیشه‌ای ۲۵۰ میلی‌لیتری توزیع و در اتوکلاو (۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه) استریل گردید تا تنها روند رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بدون حضور رقبا همانگونه که در سوپ پخته مشاهده می‌شود، بررسی گردد. سپس به سوپ استریل، غلظت‌های ppm ۱۰۰ و ۵۰ ، ۰ و همچنین سوسپانسیون حاوی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس اضافه گردید. لازم به توضیح است که غلظت‌های اسانس بر اساس نتایج به دست آمده از آزمون‌های ارگانولپتیکی تعیین گردیدند. در نهایت نمونه‌ها در دو دمای ۸ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه گذاری گردیدند.

لازم به توضیح است که درصد مقادیر اسانس، با توجه به نتایج به دست آمده از آزمون‌های چشایی در نظر گرفته شد.

Archive of SID

www.SID.ir

ریززنده مورد بررسی

باکتری مورد استفاده در این تحقیق استافیلوکوکوس اورئوس بود که با شماره کلکسیون PTCC1431 به صورت آمپول لیوفیلیزه از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید.

تلقیح باکتری

جهت دستیابی به کشت تازه و فعال ریززنده، از محیط کشت ذخیره ریززنده‌ها در در شرایط استریل و در زیر هود لامینار فلو توسط لوپ استریل تعدادی کلنی برداشته و به صورت سه منطقه‌ای در محیط کشت نوترینت آگار کشت داده شده و سپس پلیت‌ها ٢٤ ساعت در درجه حرارت ٣٥–٣٠ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گرفتند. به منظور تهیه سوسپانسیون میکروبی، توسط لوپ استریل تعدادی کلنی از کشت‌های تازه و فعال باکتری استافیلوکوکوس اورئوس برداشته شده و به سرم فیزیولوژی استریل اضافه شد. شمارش تعداد کل باکتری به روش کشت سطحی پس از تهیه رقت‌های متوالی و کشت در محیط نوترینت آگار، پس از ٢٤ ساعت گرمخانه گذاری انجام پذیرفت. پس از محاسبه میزان باکتری، مقدار معینی از سوسپانسیون اولیه که در یخچال از آن نگهداری می‌شد به سوبسترا تلقیح گردید تا میزان 10^3 باکتری در هر میلی‌لیتر سوپ به دست آید.

ارزیابی رشد باکتری

نگهداری نمونه‌ها به مدت دو هفته در دو دمای ٨ درجه سانتی‌گراد (دمای نامناسب یخچالی) و دمای ٢٥ درجه سانتی‌گراد (دمای محیط) انجام گرفته و پس از نمونه‌برداری در روزهای ١، ٣، ٥، ٧ و١٤ شمارش تعداد کل باکتری پس از تهیه رقت‌های متوالی و کشت به روش سطحی (Surface plate) در محیط نوترینت آگار انجام پذیرفت.

همچنین برای تمام نمونه‌ها یک محیط فاقد اسانس به عنوان کنترل مثبت و یک محیط فاقد باکتری به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد.

آنالیز آماری

پس از گردآوری اطلاعات بر پایه اصول آماری، جهت ارزیابی نتایج آزمون‌های حسی و همچنین بررسی اثر غلظت‌های مختلف اسانس و درجات مختلف نگهداری بر روی لگاریتم تعداد باکتری، از تکنیک‌های آماری شامل آزمون آنالیز واریانس (با استفاده از نرم افزار SPSS) استفاده گردید.

نتایج

پس از تزریق اسانس به دستگاه GC-MS، با توجه به الگوی خروج آلکان‌های نرمال، شاخص بازداری و ضرایب کواتس ترکیبات و در نهایت مقایسه آنها با شاخص‌های مرجع طیف‌های مربوط به هر جسم تفسیر و ترکیبات تشکیل دهنده اسانس شناسایی شدند. ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس رزماری همراه با درصد فراوانی هر جزء در جدول ١ ارائه گردیده است.

جدول ٢، مقایسه میانگین (Mean±SE) نتایج حاصل از ارزیابی گروه چشایی، ناشی از میزان پذیرش طعم ، بو و پذیرش کلی نمونه‌های سوپ حاوی غلظت‌های مختلف اسانس رزماری را نشان می‌دهد.

همچنین مقایسه میانگین بین سطوح مختلف فاکتور غلظت اسانس به روش دانکن در سطح احتمال ٥٪ در نمودار شماره ١ به نمایش گذارده شده است و نمودار شماره ٢ روند رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس طی ١٤ روز نگهداری در دو دمای ٨°C و ٢٥°C را به نشان می‌دهد.

www.SID.ir

جدول ۱- ترکیبات شناسایی شده در اسانس رزماری مورد آزمون

شماره	شاخص بازداری	ضریب کوآتس	نام ترکیب	درصد
۱	۷/۸٦	۹۲۷	Tricyclene	۰/۲۲
۲	۸/۱٤	۹۳۹	α-Pinene	۱۰/٤٤
۳	۸/۵	۹۵٤	Camphene	٤/٤۰
٤	۸/۵۸	۹٦۸	Verbenene	۰/۵۵
۵	۸/۸٤	۹۷۹	Octen-3-ol	۰/۵٤
٦	۹/۰۵	۹۸٤	3-Octanone	٤/۰۱
۷	۹/۱۸	۹۹۱	Myrcene	٤/۷۰
۸	۹/٦۵	۱۰۰۳	α-Phellandrene	۰/۱۹
۹	۹/۹۲	۱۰۱۷	α-Terpinene	۰/٤۹
۱۰	۱۰/۱۰	۱۰۲۵	p-Cymene	۱/٤۸
۱۱	۱۰/۲۳	۱۰۲۹	Limonene	۳/۹٤
۱۲	۱۰/۳٦	۱۰۳۱	1,8-Cineole	۷/۳۸
۱۳	۱۰/۸۵	۱۰۵۰	(E)-β-Ocimene	۰/۷۵
۱٤	۱۱/۰۹		n. i.	۰/۱٤
۱۵	۱۱/۵۵	۱۰٦۰	γ-Terpinene	۱/۳٦
۱٦	۱۱/٦٦	۱۰۹۷	Linalool	۳/۳۳
۱۷	۱۱/۹٤		n. i.	۰/۲٦
۱۸	۱۲/٤٦	۱۱۰۷	2,6-Dimethyl phenol	۰/۳۰
۱۹	۱۲/۹٦	۱۱٤۵	(E)-Verbenol	۰/۹۵
۲۰	۱۳/۰۸	۱۱٤٦	Camphore	۹/۳۱
۲۱	۱۳/۳٤	۱۱٦۳	(E)-Pinocamphone	۰/٦۱
۲۲	۱۳/۵۱	۱۱٦۹	Borneol	۸/۳۷
۲۳	۱۳/٦٦	۱۱۷۷	Terpinen-4-ol	٤/۳۷
۲٤	۱۳/۹۳	۱۱۸۹	α-Terpineol	۳/۷۱
۲۵	۱٤/۱۷		n. i.	۲/٦۰
۲٦	۱٤/۵۳	۱۲۰۵	Verbenone	۱۱/٤۲
۲۷	۱٤/۹۹		n. i.	٤/۳۵
۲۸	۱۵/۱۵	۱۲۵۷	Linalyl acetate	۲/٤۷
۲۹	۱۵/٦٦		n. i.	۰/۳٤
۳۰	۱۵/۹۱	۱۲۸۹	Bornyl acetate	۵/۱٤
۳۱	۱۷/٤٦	۱۳٤۹	α-Terpinyl acetate	۰/۱۷
۳۲	۱۷/٦۱	۱۳۵۹	neoiso-Dihydro carveol acetate	۰/۳۲
۳۳	۱۸/۸۱	۱٤۱۹	(E)-Caryophyllene	۱/۰۲
۳٤	۱۸/۹۲	۱٤۳٦	Neryl acetone	۰/۲۱
۳۵	۱۹/٤۵	۱٤۵۵	α-Humulene	۰/۱۵

n. i. = ترکیبات شناسایی نشده

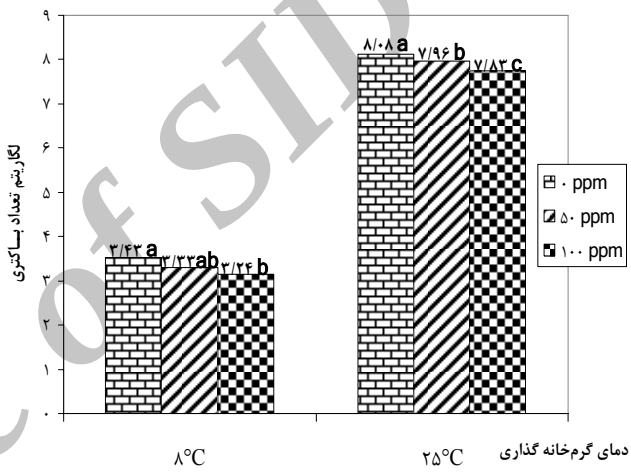
Archive of SID

www.SID.ir

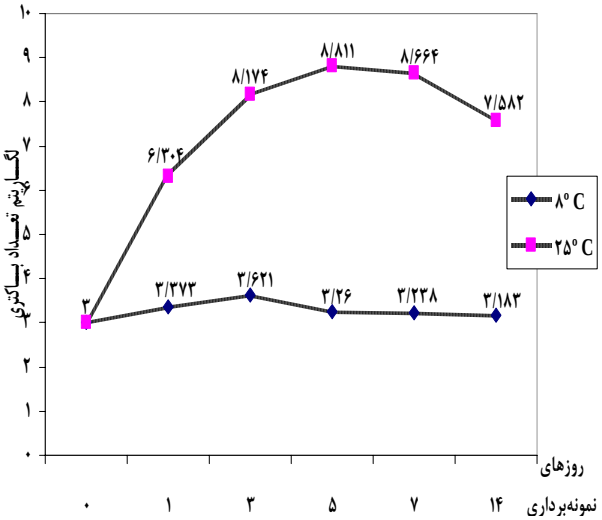
جدول ۲- مقایسه میانگین بین سطوح مختلف فاکتورهای طعم، عطر و پذیرش

غلظت اسانس (ppm)	مزه	عطر و بو	پذیرش کلی
۰	٤/٧١ a	٤/١٤ a	١ a
٥٠	٣/٢٩ b	٥ a	٠/٨٥ a
١٠٠	١/٧١ c	٣/١٤ b	٠/١٤ b
٢٠٠	١ d	٢ c	٠ b

تیمارها با حروف مشابه در هر ستون به معنای عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ٥٪ به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.



نمودار ۱- مقایسه میانگین بین سطوح مختلف فاکتور غلظت در دو دمای ۸°C و ۲۵°C



a ، b و c: در هر ستون تفاوت بین میانگین‌های فاقد حروف مشترک، معنی‌دار می‌باشد($P < ۰/۰۵$).

نمودار ۲- روند رشد باکتری طی ١٤ روز نگهداری در دو دمای ۸°C و ۲۵°C

بحث

همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، تأثیر مقادیر متفاوت اسانس بر روی عطر و طعم سوپ از لحاظ آماری در سطح اطمینان ۹۵ درصد معنی دار می‌باشد. در این رابطه می‌توان گفت نمونه‌های حاوی ۵۰ppm و ۱۰۰ppm اسانس مطلوب‌ترین نمونه‌ها از لحاظ عطر و بو توصیف شدند. اگرچه تفاوت معنی‌داری بین نمونه شاهد و دو نمونه مذکور مشاهده نمی‌شود، اما به عنوان سوپ با عطر و بوی جدید از سوی ارزیاب‌ها مورد اقبال قرار گرفتند. اما در مورد طعم، نمونه‌های حاوی ۱۰۰ppm و ۲۰۰ppm اسانس به دلیل پس طعم (After taste) حاصله، مورد اقبال گروه ارزیاب قرار نگرفتند و بطور کلی نمونه سوپ حاوی ۵۰ppm اسانس، مطلوب و قابل رقابت با نمونه سوپ تجارتی معرفی گردید. در نهایت با استفاده از این نتایج، مقادیر اسانس مورد استفاده جهت بررسی‌های میکروب‌شناسی در نظر گرفته شد.

بر اساس نتایج حاصل از بررسی‌های میکروب‌شناسی، تأثیر مقادیر مختلف اسانس بر میزان رشد باکتری از نظر آماری (آنالیز واریانس) معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) بود و این به این معنی است که با افزایش غلظت اسانس، میزان رشد باکتری کاهش می‌یابد. اثر مدت نگهداری بر روی رشد باکتری نیز از نظر آماری (آنالیز واریانس) معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) بود که نشان می‌دهد با افزایش مدت نگهداری میزان رشد باکتری کاهش می‌یابد. همچنین با کاهش دمای نگهداری، رشد باکتری نیز کاهش یافت و تأثیر دمای نگهداری بر روی رشد باکتری و اثر تداخلی آن با غلظت‌های مختلف اسانس از نظر آماری (آنالیز واریانس) معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) بود.

روغن‌های فرار یا اسانس‌ها هم از نظر مقدار و هم از نظر ترکیب‌های سازنده تحت تأثیر عوامل مختلف محیطی و درونی هستند. عوامل بیرونی مانند دما، رطوبت، نور، موقعیت جغرافیایی، خاک و غیره اهمیت دارند، اما ذکر این نکته نیز

Archive of SID
www.SID.ir

ضروری است که روشن شدن تأثیر عوامل محیطی چیزی را از نقش عوامل ژنتیکی که خود نیز ممکن است تحت تأثیر محیط قرار گیرند کم نمی‌کند(۱). در هر حال با توجه به این تفاوت‌ها، مقایسه شیمیایی ترکیبات متشکله اسانس در کنار بررسی میکروبی الزامی می‌نماید.

با مطالعه داده‌ها و بررسی درصد ترکیبات حاصل (جدول ۱) می‌توان گفت که به ترتیب بیشترین درصد را وربنون، آلفا–پینن، کامفور، بورنئول، ۱و۸–سینئول و بورنیل استات به خود اختصاص می‌دهند و این در حالی است که نتایج حاصل از بررسی ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس رزماری کشت شده در مناطق دیگر، متفاوت گزارش شده است. به عنوان مثال Djeddi و همکاران (۲۰۰۷) در تحقیق خود با به دست آوردن ۳٤ ترکیب در نتیجه آنالیز اسانس، کامفور (۱٤/٦٪)، ۱و۸–سینئول (۱۲/۲٪)، بتا–کاریوفیلن (۱۰/۹٪)، بورنئول (۱۰/٦٪)، بتا–پینن (۸/۵٪) و کامفن (۷/۲٪) را به عنوان بیشترین ترکیبات موجود در اسانس رزماری کشت شده در الجزایر عنوان داشته‌اند. همچنین می‌توان به نتایج حاصله از آنالیز اسانس رزماری کشت شده در شهر کرمان اشاره کرد، مقتدر و افضلی (۲۰۰۹) پس از تجزیه شیمیایی اسانس رزماری، ٤۱ ترکیب را در اسانس مورد آزمون شناسایی نمودند که به ترتیب ترکیبات زیر بیشترین درصد را به خود اختصاص می‌دهند:

آلفا–پینن (۱۵/۵۲٪)، کامفور (۱۱/٦٦٪)، وربنون (۱۱/۱۰٪)، ۱و۸–سینئول (۱۰/٦۳٪)، بورنئول (۷/۲۹٪)، بورنیل استات (۵/٤۱٪) و کامفن (۹/۳۱٪).

درباره سازوکار اثر اسانس‌ها روی ریززنده‌ها نظرات مختلفی مطرح است. با توجه به گروه‌های شیمیایی متعدد در اجزای تشکیل دهنده اسانس‌ها، فعالیت ضدمیکروبی اسانس‌ها به یک سازوکار خاص معطوف نمی‌گردد و این مواد هدف‌های متعددی را در سلول تحت تأثیر قرار می‌دهند.

بطور کلی سازوکار اثر اسانس‌ها بر روی سلول باکتری عبارتند از ایجاد اختلال در ساختمان دیواره سلولی، آسیب زدن به غشاء سیتوپلاسمی، آسیب رساندن به پروئین‌های غشاء، خروج محتویات سلول به خارج، ایجاد انعقاد در سیتوپلاسم و اختلال در سیستم انتقال فعال پروتون (Proton Motive Force) (٦).

اصولاً اسانس‌ها ماهیت آبگریز دارند و همین موضوع به آنها کمک می‌کند تا در غشاء و میتوکندری سلول نفوذ کنند و آنها را نفوذپذیر کنند، در نتیجه نقل و انتقال یون‌ها با اختلال مواجه می‌شود و خروج و نشت محتویات سلولی اتفاق می‌افتد در نهایت سلول می‌میرد.

از زمان شناخت ترپن‌های موجود در اسانس‌های گیاهی به عنوان فاکتورهای ضد میکروبی اولیه، سازوکار عمل ضد میکروبی این اسانس‌ها به آنها نسبت داده شد. ساختمان فنل‌های طبیعی موجود در اکثر ترپن‌های بسیار فعال نظریه ارتباط میان نحوه فعالیت و ساختمان فنلی آنها را قابل قبول می‌سازد. نحوه فعالیت ترکیبات فنلی معمولاً به صورت دخالت در عمل غشاء سیتوپلاسمی و شامل نیروی تحریک پروتئین و انتقال یونها می‌باشد(٦).

معمولاً اسانس‌های غنی از ترکیبات فنلی دارای خاصیت ضد میکروبی قابل توجهی هستند و در واقع این ترکیبات فنلی موجود در اسانس‌های گیاهی بیشترین تأثیر را در ایجاد خاصیت ضد میکروبی در آنها دارند، این ترکیبات هم در غشاء سلول نفوذ می‌کنند و هم می‌توانند در لخته شدن محتویات سلول نقش داشته باشند(۵ و ۱۰).

در مجموع، ترپن‌ها ممکن است دارای سازوکارهای ضد میکروبی دیگری نیز باشند. کانر و بوچات (۱۹۸٤)، پیشنهاد کردند که اسانس‌های موجود در گیاهان دارویی ممکن است از طریق ایجاد اختلال در تولید انرژی و سنتز ترکیبات ساختمانی از فعالیت سیستم‌های آنزیمی مخمرها جلوگیری نمایند(۷).

Archive of SID

www.SID.ir

همچنین باید به مطالعاتی اشاره داشت که نشان داده‌اند وقتی اسانس‌ها بطور کامل استفاده می‌شوند نسبت به زمانی که فقط اجزای تشکیل دهنده اصلی (Major components) آنها استفاده می‌شوند، دارای تأثیر بیشتری می‌باشند. بنابراین این امر مشخص می‌کند که اجزای کم مقدار (Minor components) اسانس‌ها برای فعالیت اسانس مهم بوده و ممکن است یک اثر تشدید کننده داشته باشند(٦).

به هر حال پیش از این ویژگی ضدمیکروبی اسانس رزماری در تحقیق‌های گوناگون در محیط‌های کشت به اثبات رسیده بود(٩ و ١٨)، اما در مواد غذایی نه‌تنها عوامل داخلی نظیر مقادیر چربی، پروتئین، آب، آنتی‌اکسیدان‌ها، نگهدارنده‌ها، pH، نمک و دیگر افزودنی‌ها می‌توانند بر روی حساسیت باکتری‌ها تأثیر بگذارند، بلکه عوامل خارجی مانند درجه حرارت، نوع بسته بندی، خصوصیات ریززنده و... نیز می‌توانند فعالیت باکتری‌ها را تحت تأثیر قرار دهند.

از آنچه که تا کنون گفته شد مشخص می‌شود که اثر ضد باکتریایی اسانس رزماری مورد به دلیل وجود مواد مؤثره موجود در ترکیب آن است و هرچه درصد این ترکیبات بیشتر باشد، خاصیت ضد میکروبی نیز بیشتر می‌گردد.

با توجه به این موضوع که در دمای ٨ درجه سانتی‌گراد، فاکتور دما مؤثرتر از فاکتور غلظت اسانس در کنترل رشد باکتری عمل نمود، تعداد باکتری حتی در نمونه شاهد در این دما به میزان کافی جهت تولید توکسین (بیش از یک میلیون در گرم غذا) نرسید و با توجه به اینکه در دمای ٢٥ درجه سانتی‌گراد، میزان اسانس مطلوب به دست آمده در آزمایش‌های چشایی، توانایی بازدارندگی از رشد باکتری تا زیر تعداد کافی جهت تولید توکسین را دارا نمی‌باشد، حتی با عنایت به کاهش معنی‌دار تعداد باکتری، میزان اسانسی که تغییرات مطلوب حسی در ماده غذایی را ایجاد می‌نماید، انتظارات لازم جهت کنترل رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس را برآورده نمی‌نماید.

فهرست منابع

١. جایمند، ک.، رضایی، م. (١٣٨٥): دستگاه‌های تقطیر، روش‌های آزمون و شاخص‌های بازداری در تجزیه اسانس، چاپ اول، انجمن گیاهان دارویی، تهران، ایران، صفحه: ١٨، ١٠٧-١٠٥.

٢. رضویلر، و. (١٣٨٧): میکروبهای بیماریزا در مواد غذایی و اپیدمیولوژی مسمومیتهای غذایی، چاپ اول، انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ایران، صفحه: ١٣١-١٢٧.

٣. زرگری، ع. (١٣٦٩): گیاهان دارویی، جلد چهارم، چاپ اول، انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ایران، صفحه: ٧٢-٧١.

٤. واتس، بی. ام.، یلی‌ماکی، جی. ال.، جفری، ال. ئی.، الیاس، ال. جی. (١٣٧٧): روش‌های ارزیابی حسی مواد غذایی، چاپ اول، ترجمه قاضی‌زاده، م.، رازقی، ع. انتشارات انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، تهران، ایران، صفحه: ٧٨-٧٥.

5. Brul, S., Coote, P. (1999): Preservative agents in foods: Mode of action and microbial resistance mechanisms. Int. J. Food Microbiol. ; 50(1-2): 1-17.
6. Burt, S. (2004): Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. Int. J. Food Microbiol. ; 94(3): 223-253.
7. Conner, D. E., Beuchat, L. R. (1984): Effects of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts. J. Food Sci. ; 49(2): 429-434.
8. Dimitrijevic, S. I., Mihajlovski, K. R., Antonovic, D. G., Milanovic-Stevanovic, M. R., Mijin, D. Z. (2007): A study of the synergistic antilisterial effects of a sub-lethal dose of lactic acid and essential oils from Thymus vulgaris L., Rosmarinus officinalis L. and Origanum vulgare L. Food Chem. ; 104(2): 774–782.
9. Djeddi, S., Bouchenah, N., Settar, I., Skaltsa, H. (2007): Composition and antimicrobial activity of the essential oil of Rosmarinus officinalis from Algeria. Chem. Nat. Compd. ; 43(4): 487-490.
10. Dorman, H. J. D., Deans, S. G. (2000): Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. J. Appl. Microbiol. ; 88(2): 308-316.
11. Gutierrez, J., Barry-Ryan, C., Bourke, P. (2008): The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions

www.SID.ir

with food ingredients. Int. J. Food Microbio. ; 124(1): 91–97.

12. Kotzekidou, P., Giannakidis, P., Boulamatsis, A. (2008): Antimicrobial activity of some plant extracts and essential oils against foodborne pathogens in vitro and on the fate of inoculated pathogens in chocolate. LWT-Food Sci. Technol.; 41(1): 119–127.
13. Kumar, A., Shukla, R., Singh, P., Shekhar Prasad, C., Kishore Dubey. N. (2008): Assessment of Thymus vulgaris L. essential oil as a safe botanical preservative against post harvest fungal infestation of food commodities. Innov. Food Sci. Emerg. ; 9(4): 575–580.
14. Lemonica, I. P., Demasceno, D. C., Di-Stasi, L. C. (1996): Study of the embryonic effects of an extract of rosemary (Rosmarinus officinalis L.). Braz. J. Med. Biol. Res. ; 29(2): 223-227.
15. Minnunni, M., Wolleb, U., Mueller, O., Pfeifer, A., Aeschbacher, H. U. (1992): Natural antioxidants as inhibitors of oxygen species induced mutagenicity. Mutat. Res.; 269(2): 193-200.
16. Moghtader, M., Afzali, D. (2009): Study of the antimicrobial properties of the essential oil of Rosemary. American-Eurasian J. Agric. Environ. Sci.; 5(3): 393-397.
17. Moosavy, M., Akhondzadeh Basti, A., Misaghi, A., Zahraei Salehi, T., Abbasifar, R., Ebrahimzadeh Mousavi, H. A., Alipour, M., Emami Razavi, N., Gandomi, H., Noori, N. (2008): Effect of Zataria multiflora Boiss. Essential oil and nisin on Salmonella typhimurium and Staphylococcus aureus in a food model system and on the bacterial cell membrans. Food Res. Int.; 41(10): 1050-1057.
18. Santoyo, S., Cavero, S., Jaime, L., Ibanez, E., Senorans, F. J., Reglero, G. (2005): Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Rosmarinus officinalis L. Essential Oil Obtained via Supercritical Fluid Extraction. J. Food Prot.; 68(4): 790-795.
19. Wang, W., Wu, N., Zu, Y. G., Fu., Y. J. (2008): Antioxidative activity of Rosmarinus officinalis L. essential oil compared to its main components. Food Chemistry; 108(3): 1019–1022.
20. Yesil Celiktas, O., Hames Kocabas, E. E., Bedir, E., Vardar Sukan, F., Ozek, T., Baser, K. H. C. (2007): Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of Rosmarinus officinalis, depending on location and seasonal variations. Food Chem.; 100(2): 553–559.

Archive of SID

www.SID.ir